

学校编码: 10384

密级_____

学号: 22620081151532

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

苯并(a)芘和全氟辛烷磺酰基化合物联合暴露对海水青鳉(*Oryzias melastigma*)胚胎氧化胁迫及内分泌干扰作用的初步研究

Study on oxidativestress and endocrine disturbance effects of the combined exposure of Benzo(a)pyrene and Peifluorooctane Sulfonate in *Oryzias melastigm* embryos

林小龙

指导教师姓名: 王新红 教授

专 业 名 称: 环 境 科 学

论文提交日期: 2011 年 8 月

论文答辩时间: 2011 年 8 月

2011年8月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

目 录

摘要	VI
ABSTRACT	VIII
缩略词表	X
第 1 章 前 言	1
1.1. 选题依据	1
1.2. 国内外研究动态与进展	1
1.2.1 污染现状与毒理学研究进展	1
1.2.2 联合毒性研究进展	7
1.2.3 鱼类胚胎生态毒理学研究	9
1.2.4 所涉及生物标志物的研究进展	14
1.3. 研究内容和技术路线	20
1.3.1 研究内容	20
1.3.2 研究技术路线	21
第 2 章 材料与方 法	22
2.1. 材料	22
2.1.1 实验动物	22
2.1.2 生态毒理实验设计	22
2.1.3 样品采集与处理	23
2.1.4 仪器与试剂	26
2.2. 方法	26
2.2.1 生理机能观察	26
2.2.2 蛋白含量测定	27
2.2.3 抗氧化酶活性测定	28
2.2.4 mRNA 表达量检测	28
2.3. 数据处理	29
第 3 章 B(a)P 和 PFOS 对海水青鳉胚胎生理机能的影响	30
3.1. B(a)P 和 PFOS 对海水青鳉胚胎心搏率的影响	30

3.1.1 单独暴露对不同发育阶段海水青鳉胚胎心搏率影响.....	30
3.1.2 联合暴露对不同发育阶段海水青鳉胚胎心搏率影响.....	31
3.2. B(a)P 和 PFOS 对海水青鳉胚胎孵化率的影响.....	32
3.3. B(a)P 和 PFOS 对海水青鳉胚胎孵化时间的影响.....	33
3.4. B(a)P 和 PFOS 对海水青鳉胚胎生理机能影响探讨.....	35
第 4 章 B(a)P 和 PFOS 对海水青鳉胚胎抗氧化酶活性的影响	37
4.1. B(a)P 和 PFOS 对海水青鳉胚胎超氧化物歧化酶(SOD)的影响	37
4.1.1 单独暴露对海水青鳉 SOD 活性的影响.....	37
4.1.2 联合暴露对海水青鳉胚胎 SOD 活性的影响.....	39
4.2. B(a)P 和 PFOS 对海水青鳉胚胎过氧化氢酶(CAT)的影响	41
4.2.1 单独暴露对海水青鳉胚胎 CAT 活性的影响	41
4.2.2 联合暴露对海水青鳉胚胎 CAT 活性的影响	43
4.3. 联合作用方式分析	46
4.3.1 B(a)P 和 PFOS 对 SOD 活性影响的联合作用方式.....	46
4.4. B(a)P 和 PFOS 对海水青鳉胚胎氧化胁迫致毒效应探讨.....	48
第 5 章 B(a)P 和 PFOS 对海水青鳉胚胎内分泌干扰作用	51
5.1. 雌激素受体 ER α 基因 mRNA 表达量	51
5.2. 卵黄蛋白 Vtg 基因 mRNA 表达量	52
5.3. 卵壳前体蛋白 Chg 系列基因 mRNA 表达量	54
5.4. B(a)P 和 PFOS 对海水青鳉胚胎内分泌干扰作用探讨.....	56
第 6 章 结论与展望.....	59
参考文献.....	61
致谢	73

Contents

ABSTRACT in Chinese	VI
ABSTRACT	VIII
Abbreviation	X
Chapter 1 Introduction	1
1.1. Research objectives	1
1.2. Research review	1
1.2.1 Pollution and Toxicology Research	1
1.2.2 Advances in combined exposure Research	7
1.2.3 Fish embryos Ecotoxicology	9
1.2.4 Review of biomarkers	14
1.3. Research objects and route	20
1.3.1 Research contents	20
1.3.2 Research technical route	21
Chapter 2 Material and methods	22
2.1. Ecotoxicology experiment	22
2.1.1 Experimental animal	22
2.1.2 Experimental design	22
2.1.3 Sample collection and treatment	23
2.1.4 Instruments and reagents	26
2.2. Methods	26
2.2.1 Morphology	26
2.2.2 Measurement of protein	27
2.2.3 Measurement of antioxidant enzymes	28
2.2.4 Measurement of mRNA expression	28
2.3. Statistical analysis	29
Chapter 3 Physiological impact on the marine medaka embryos exposed to B(a)P and PFOS	30
3.1. Effects on heart beats in the marine medaka embryos	30
3.1.1 Effect on heart beats in the marine medaka embryos by sigle exposure to B(a)P and PFOS	30
3.1.2 Effect on heart beats in the marine medaka embryos by mixed exposure	

to B(a)P and PFOS	31
3.2. Effects of PFOS and B(a)P on hatching rate percentage in the marine medaka embryos	32
3.3. Effects of PFOS and B(a)P on hatching time in the marine medaka embryos	34
3.4. Physiological toxicity	35
Chapter 4 Antioxidant enzymes impact on the marine medaka embryos exposed to B(a)P and PFOS	37
4.1. SOD activity impact in the marine medaka embryos exposed to B(a)P and PFOS	37
4.1.1 Effect on SOD activity in the marine medaka embryos by sigle exposure to B(a)P and PFOS	37
4.1.2 Effect on SOD activity in the marine medaka embryos by mixed exposure to B(a)P and PFOS	39
4.2. CAT activity impact in the marine medaka embryos exposed to B(a)P and PFOS	41
4.2.1 Effect on CAT activity in the marine medaka embryos by sigle exposure to B(a)P and PFOS	41
4.2.2 Effect on SOD activity in the marine medaka embryos by mixed exposure to B(a)P and PFOS	43
4.3. Discussion on the combined effects of B(a)P and PFOS	46
4.3.1 Combined effects of embryonic SOD activity by the mixture of B(a)P and PFOS	46
4.3.2 Combined effects of embryonic CAT activity by the mixture of B(a)P and PFOS	48
4.4. Antioxidant system toxicity	48
Chapter 5 Endocrine disruption effect on the marine medaka embryos exposed to B(a)P and PFOS	51
5.1. ERα mRNA expression impact in the marine medaka embryos exposed to B(a)P and PFOS	51
5.2. Vtg1 mRNA expression impact in the marine medaka embryos exposed to B(a)P and PFOS	52
5.3. Chgs mRNA expression impact in the marine medaka embryos exposed	

to B(a)P and PFOS	54
5.4. Endocrine disruption effect.....	56
Chapter 6 Conclusion and Prospect	59
References	64
Acknowledgement.....	73

厦门大学博硕士论文摘要库

摘要

持久性有机污染物(POPs)的联合毒性效应研究一直是生态毒理学探讨的重点和难点。本研究以全氟辛烷磺酰基化合物(Peifluorooctane Sulfonate, PFOS)作为类雌激素代表、苯并(a)芘(Benzo(a)Pyrene, B(a)P)作为抗雌激素代表的 POPs 对模式鱼类海水青鳉(*Oryzias melastigma*)胚胎进行单独和联合暴露,采用生理生化和分子生物技术相结合的方法,从生理机能(心搏率、孵化率和孵化时间)、生化指标(SOD 和 CAT 活力)和基因表达(ER α 、Vtg1、Chg L 和 Chg H)三个层面研究 POPs 对海洋模式鱼类的致毒机制,探讨 POPs 联合作用对胚胎毒性的时间-剂量-效应关系、氧化胁迫程度和内分泌干扰等的影响。初步阐述 PFOS 和 B(a)P 对海水青鳉(*Oryzias melastigma*)胚胎的联合致毒效应;研究结果可为筛选用于检测水体中内分泌干扰物的简易实用的生物标志物提供理论依据。研究取得如下结果:

(1)生理机能观察结果表明海水青鳉胚胎对这两种 POPs 暴露十分敏感,包括心跳紊乱、孵化率下降和孵化时间缩短等。B(a)P(2、10、50 $\mu\text{g/L}$)和 PFOS(4、16 mg/L)均能明显降低海水青鳉胚胎孵化率;在孵化时间上,胚胎在 1 mg/L 和 4 mg/L PFOS 出现刺激加快孵化的作用,而 B(a)P 作用不明显;在心脏功能上,不同发育期(4、8、12 dpf)的胚胎心搏均有受 B(a)P 影响,而 PFOS 影响不明显;联合作用中,B(a)P 和 PFOS 混合物进一步抑制孵化率、缩短孵化时间,联合作用方式为协同作用。但是,在心脏功能观察上发现 PFOS 能抑制 B(a)P 对胚胎心搏的影响,呈现拮抗作用。

(2)抗氧化酶活性测定发现 B(a)P(2、10 $\mu\text{g/L}$)和 PFOS(1、4 mg/L)均能明显影响海水青鳉胚胎 SOD 和 CAT 活性,能造成不同发育期(4、8、12 dpf)胚胎氧化胁迫,高浓度组 50 $\mu\text{g/L}$ B(a)P 和 16 mg/L PFOS 中未发现对胚胎抗氧化酶活性的显著影响;结果也验证了 SOD 和 CAT 活性变化存在不同步性;联合作用中 B(a)P 和 PFOS 混合物对 SOD 和 CAT 活性联合作用方式受剂量、暴露时间等因素影响而存在差异,既有加强又有拮抗,但以加强对海水青鳉胚胎的氧化胁迫作用为主。

(3)Real-time PCR 测定基因表达发现 B(a)P(2、10 和 50 $\mu\text{g/L}$)和 PFOS(1、4

和 16 mg/L)均能抑制各雌激素效应相关基因表达,在本研究剂量范围内 PFOS 抑制强度明显高于 B(a)P,同时结果表明 Vtg1、Chg L 和 Chg H 基因对污染物暴露响应比 ER α 基因更为敏感。研究结果进一步验证 B(a)P 的抗雌激素效应,同时发现 PFOS(1、4 和 16 mg/L)由于剂量过高已对海水青鳉胚胎造成细胞毒性,其雌激素效应被掩盖;联合作用中 B(a)P 和 PFOS 有明显的交互作用,表现为 PFOS 增强 B(a)P 的抗雌激素效应, B(a)P 减弱 PFOS 对海水青鳉造成的细胞毒性,且均有明显的剂量-效应关系。

(4)PFOS 和 B(a)P 对海水青鳉胚胎造成包括发育毒性、氧化胁迫和内分泌干扰的毒性作用。但是值得指出的是,在联合暴露中各生物标志物指示的联合作用模式并不完全一致,表明在评价野外环境 PFOS 和 B(a)P 的生态毒理学效应时应结合多个指标综合评价,才能更为全面、准确地了解水质污染情况。

关键词: POPs; 联合作用; 氧化胁迫; 内分泌干扰; 海水青鳉

ABSTRACT

Studying on the combined toxic effects of persistent organic pollutants (POPs) is an important and difficult topic in ecotoxicological research all the while. The developmental toxicity, oxidative stress and endocrine disturbance effects of the combined exposure of Benzo(a)Pyrene (B(a)P) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) in marine medaka (*Oryzias melastigma*) embryos were studied. This paper integrated the ecotoxicological and biochemical methods to discuss the poisoning mechanism of POPs in marine model fish. The results provided a theoretical basis to select simple, sensitive and practical biomarkers to the detection of endocrine disruptors in marine environment. The results were obtained as following:

1. Marine medaka embryos were very sensitive to POPs exposure, including heart disorders, hatchability decreased and incubation time stimulation, etc. The results showed that both of B(a)P and PFOS could reduce the embryos hatching rate significantly. PFOS could shorten incubation time, while the impact of B(a)P was not obvious. The cardiac function of medaka embryos at different developmental stages were affected by B(a)P, however it was not obvious in the exposure to PFOS. Compared with the individual pollutant exposure, the mixture of B(a)P and PFOS further inhibited the hatching rate and shorten the incubation time, which showed synergistic effect. On the contrary, the mixture on heart function showed antagonistic effects since PFOS could eliminate the effect of B(a)P on embryonic cardiac.
2. Both B(a)P and PFOS induced SOD and CAT activities of marine medaka embryos significantly. Meanwhile, the mixture of B(a)P and PFOS can cause oxidative stress to embryos at different developmental stages. Our research also demonstrated that the variation of SOD activities over time was not consistent with CAT activities, which implied the combined effects were determined by the dose, exposure time and other factors. Both of synergistic and antagonistic effect could be found in the experiments. Nevertheless, the overall performance of the mixtures strengthened oxidative stress by each other, even cause oxidative damage in later stages of embryonic development.
3. Both of B(a)P and PFOS inhibited the endocrine disruption-related gene expression, while the inhibit intensity of PFOS was significantly higher than B(a)P. We also found that both Vtg1 and Chgs genes were more sensitive than the ER α gene to estrogen

exposure. The anti-estrogenic effects of B(a)P were testified and the estrogenic effects of PFOS were concealed by the cells toxicity due to high doses exposure of PFOS. In the combined experiment, PFOS enhanced the anti-estrogenic effects of B(a)P and it released embryonic cytotoxicity caused by PFOS which showed a clear dose-response relationship.

4. This research indicated that B(a)P and PFOS could cause the developmental toxicity, endocrine disruption and oxidative stress in marine medaka embryos, even caused embryonic oxidative damage and cytotoxicity. However, the various specific biomarkers showed the inconsistent results for the mixture exposure in combined experiment. So when we assess the pollution of B(a)P and PFOS in marine environment, we should use various biomarkers and indicators to obtain a comprehensive evaluation.

Key Words: POPs; combined effects; endocrine disrupters; marine medaka.

缩略词表

英文缩写	英文全称	中文全称
B(a)P	Benzo(a)pyrene	苯并(a)芘
PFOS	Perfluorooctane sulfonate	全氟辛烷磺酰基化合物
ER	Estrogen receptor	雌激素受体
Vtg	Vitellogenin	卵黄蛋白原
Chg	Chorogenin	卵壳前体蛋白
AhR	Aryl hydrocarbon receptor	芳香烃受体
SOD	Superoxide dismutase	超氧化物歧化酶
CAT	Catalase	过氧化氢酶
ROS	Reactive oxygen species,	活性氧自由基
EDCs	Endocrine disrupting chemicals	环境内分泌干扰物
PCR	Polymerase chain reaction	聚合酶链反应
PBS	Phosphate buffer saline	磷酸盐缓冲液
POPs	Persistent organic pollutants	持久性有机污染物
PAHs	Polycyclic aromatic hydrocarbons	多环芳烃
PFCs	Perfluorocarbons	全氟碳化物
CYP450	Cytochrome P450	细胞色素 P450
cDNA	Complementary DNA	互补脱氧核糖核酸
RT - PCR	Real-time PCR	实时荧光定量

第 1 章 前 言

1.1. 选题依据

海洋是一个复杂的环境，存在大量的内分泌干扰物。随着人类活动的频繁，人为合成的化学物质大量进入海洋环境中，进一步加剧了海洋环境的污染。这些污染物质中的大部分被验证为对水生生物具有内分泌干扰作用，表现为生殖异常、胚胎毒性、发育障碍、代谢紊乱和癌症等。由于自然环境中污染物种类繁多，它们对水生生物，甚至人体的毒性具有交互作用，而关于内分泌干扰物联合暴露研究并不多，所以它们之间的联合作用值得我们进一步研究。

本研究以模式鱼类海水青鳉(*Oryzias melastigma*)胚胎为研究对象，选取全氟辛烷磺酰基化合物(Peifluorooctane Sulfonate, PFOS)作为类雌激素代表、苯并(a)芘(Benzo(a)Pyren, B(a)P)作为抗雌激素代表的两种 POPs，采用生化和生物分子技术相结合的方法，从生理机能、生化和分子三个层面研究 POPs 对海洋模式鱼类的致毒机制，探讨这两种内分泌干扰物单独或联合作用下对胚胎毒性的时间-剂量-效应关系、氧化胁迫程度和内分泌作用的影响。从而更为全面地了解 POPs 对海水青鳉(*Oryzias melastigma*)胚胎的联合致毒效应和机制；初步探讨 PFOS 和 B(a)P 对海洋生物联合作用方式；也为选取用于检测水体中内分泌干扰物简易实用的生物标志物提供理论依据。

1.2. 国内外研究动态与进展

1.2.1 污染现状与毒理学研究进展

1.2.1.1 苯并(a)芘污染现状与毒理学研究

苯并(a)芘(Benzo(a)pyrene, B(a)P)，又名 3, 4-苯并芘，是一种含 5 个环的稠环芳烃，分子式为 $C_{20}H_{12}$ ，有多种同分异构体，结构式如图 1-1。苯并(a)芘最初从煤焦油中分离出来，为无色或淡黄色，其纯品为淡黄色片状晶体，在苯溶液中呈紫色荧光，不溶于水，微溶于乙醇、甲醇，溶于苯、氯仿等有机溶剂，具有高度的脂溶性(胡望钧, 1993; Edenharder et al., 1998)。B(a)P 是一种日常生活或工业生产过程中产生的副产物，主要是由有机物的不完全燃烧产生(魏复盛, 2001)。生物合成、自然起火和火山活动构成了 B(a)P 的天然本底值，但人类活动才是造

成 B(a)P 污染的主要原因(袁彦华等, 1999)。由于不同的国家和地区能源结构等实际情况不同, B(a)P 来源方面也存在差异。燃煤和烹调是我国特有的 B(a)P 污染源(戴树桂, 2005)。水体中 B(a)P 的来源有: 降雨、水上行驶的船舶漏油、工业废水排放、生物体合成等(汤根土和张云翼, 1996)。不同地区污染程度随人类活动的程度不同而存在相当大的差别。

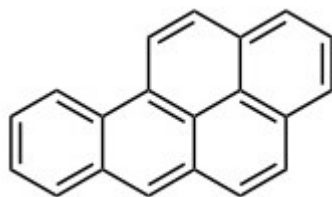


图 1-1 苯并(a)芘化学结构式

Fig. 1-1 The chemical structural formula of Benzo(a)pyrene

由于人类活动的频繁和经济的快速发展, 大量的污染物进入海洋环境中, 局部海域已超出其自净能力, 严重破坏海洋环境, 危及海洋生物, 甚至危害到处于食物链顶端的人类。许多研究证实石油污染造成海洋硬骨鱼生殖参数的下降, 包括改变生殖激素的水平, 抑制性腺发育, 减少卵和仔鱼的生存发育能力等(Idle et al., 1995; Johnson et al., 1995; Thomas and Budiantara, 1995)。B(a)P 作为最普遍存在的多环芳烃(Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)之一, 具有较强的致癌致畸作用, 在环境中为优先监测对象。Heit 等人研究显示出 B(a)P 在表层沉积物中浓度可达到 0.13-0.69 $\mu\text{g/g}$ (干重)(Heit et al., 1981), 美国一份研究显示路易斯安那沼泽的支流沉积物中的 B(a)P 含量高达 610 $\mu\text{g/g}$ (Catallo III and Gambrell, 1987)。此外, 据报道厦门西港表层沉积物中 B(a)P 浓度为 1.0 - 23.4 ng/g , PAHs 总浓度可达 5.118 $\mu\text{g/g}$ (Tian et al., 2004)。水体中 B(a)P 的背景值一般 0.01 - 100 ng/L 。B(a)P 在九龙江河口区和厦门西海域的表层水中含量可达 0.56 - 3.32 $\mu\text{g/L}$ (Maskaoui et al., 2002), 远高于背景值。随着经济的发展, 有可能导致 PAHs 排放量的增加(Cohen, 1995)。据统计, 在世界范围内每年约有 4.3 万吨 PAHs 被释放到大气中, 同时约有 23 万吨进入海洋环境。美国标准 EPA 公布的 129 种优先控制污染物中, 有 16 种属于多环芳烃化合物。海洋环境中, B(a)P 在水体和沉积物中暴露实际上已不可避免。B(a)P 是典型的具有强致癌性的多环芳烃。目前

对多环芳烃的生态毒理效应及其人类健康风险评价的研究,许多是通过 B(a)P 的研究来了解。以 B(a)P 作为研究的污染物,具有代表性和实用性(金相灿, 1990)。

B(a)P 是致癌性最强的 PAHs 类化合物之一(王连生, 1995)。由于 B(a)P 是第一个被发现的环境化学致癌物,而且致癌性很强(童建和冯致英, 1994),可诱发皮肤、肺和消化道癌症(贾涛, 1998)。1775 年报道的英国烟囱清洁工人阴囊癌发病率高的调查,使人们开始注意到煤烟可能是阴囊癌诱因(赵月兰和秦建华, 1996)。直到 1872 年才被一位英国学者 Butlin 证实这一发现。1915 年又经日本学者 Yanagiwa 的煤焦油涂抹兔耳诱导皮肤癌的实验和 1933 年 Cook 等人从煤焦油中成功分离出几种 PAHs 并被确定为致癌物的实验,人们才真正认识到 B(a)P 作为一种强致癌物质的存在。动物试验证明, B(a)P 对局部或全身都有致癌作用。选用多种动物进行实验,采用多种暴露方式,均得到了诱发癌症的阳性报告(胡望钧, 1993)。除致癌外, B(a)P 还具有致畸、致突变作用,并可损害中枢神经、血液,破坏淋巴细胞微核粒、肝脏功能和 DNA 修复能力等(杨文敏和吴炳耀, 1994; 杨若明, 2001)。已有研究证实 PAHs 对多种脊椎动物发育早期胚胎或幼体具有发育毒性,能够导致胚胎心血管功能障碍、心包囊和卵黄囊水肿、生长受抑制和高死亡率等情况。B(a)P 在生物体内转化成醌类物质(Quinones),在这个氧化过程中产生的活性氧自由基(Reactive Oxygen Species, ROS)能够导致脂质过氧化反应(Sole et al., 1996)和 DNA 损伤(Martinez and Livingstone, 1995; Mitchelmore et al., 1998),研究发现 B(a)P 能够引起染色体异常,诱发在体外培养的鱼细胞基因突变(Hose et al., 1982)。而且, B(a)P 作为一种内分泌干扰物,对人体内分泌系统也有一定的干扰作用,对人类的生存和繁衍构成严重的威胁(魏复盛, 1999)。大气、水体和土壤中的 B(a)P 被生物吸收后,在生物体组织中不断富集,将环境中浓度很低的 B(a)P 进行浓缩,并经过食物链传递,进入人体并构成对人体的危害。

1.2.1.2 全氟辛烷磺酰基化合物污染现状与毒理学研究

全氟辛烷磺酰基化合物(Peifluorooctane Sulfonate, PFOS)是重要的全氟化表面活性剂,具有疏水疏油的特性,广泛应用于工业用品和消费产品,包括防火薄膜、地板上光剂、香波,同时在地毯、制革、造纸和纺织等领域作为表面保护材料(周启星和胡献刚, 2007)。PFOS 分子是由 17 个氟原子和 8 个碳原子组成烃链,烃链末端碳原子上连接一个磺酰基,碳原子原本连接的氢原子全部被氟原子取代,

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库